

# **ЭЛЕКТРОАКТИВНЫЕ НАНОКОМПОЗИТЫ ДЛЯ ИММУНОАНАЛИЗА НА ОСНОВЕ Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>**

Н.Н. Малышева, А.И. Матерн

*ФГАОУ ВПО «Уральский федеральный университет*

*имени первого Президента России Б.Н.Ельцина», г. Екатеринбург*

В настоящее время идёт непрерывное совершенствование диагностических методов, разрабатываются новые, всё более эффективные и надёжные методики. Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний играет решающую роль в постановке окончательного диагноза, позволяет определить дальнейшую тактику лечения, избежать возможных осложнений.

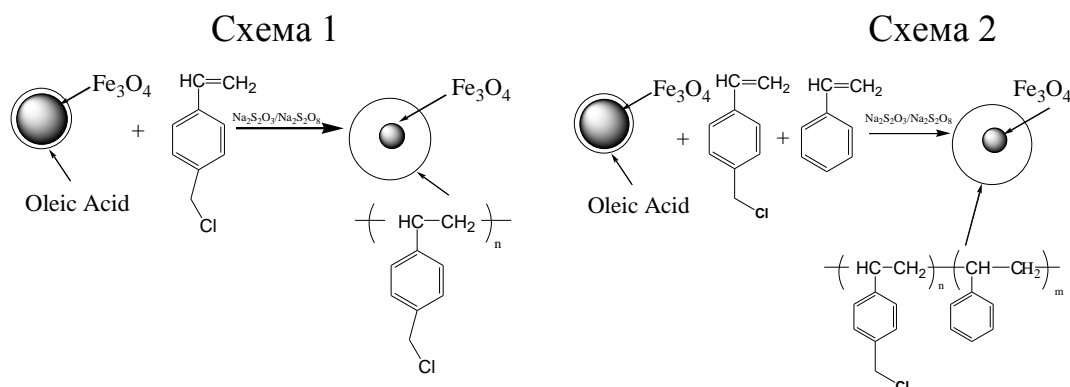
В настоящее время для диагностики широкого круга инфекционных заболеваний используются серологические (реакция агглютинации (РА), реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)), а также иммуноферментный анализ (ИФА) и метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Недостатками этих методов являются: низкая чувствительность и специфичность, поздние сроки подтверждения диагноза (РА, РНГА), высокая стоимость используемых реагентов (ИФА) и оборудования (ПЦР). В связи с этим, актуальными являются исследования и разработка новых подходов и методов анализа, а также устройств для диагностики бактериальных/вирусных заболеваний. Привлечение электрохимических методов анализа, с использованием биосенсоров для диагностики опасных инфекций, представляется весьма перспективным. Для этих методов характерны высокая чувствительность, хорошая воспроизводимость и селективность, простота аппаратного оформления и возможность создания портативных приборов, низкая стоимость анализа по сравнению с другими методами.

Использование в электрохимических иммуносенсорах в качестве сигналообразующих меток наночастиц Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, модифицированных электроактивными соединениями для определения патогенных микроорганизмов, позволит повысить экспрессность, чувствительность и селективность анализа.

Целью настоящей работы являлась разработка методов получения и исследование полимерных нанокомпозитов на основе наночастиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . Формирование полимерного слоя на поверхности наночастиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  проводили следующим образом:

- 1) полимеризацией в прямых микроэмульсиях, с последующей пришивкой электроактивных соединений;
- 2) введением наночастиц в электроактивный полимер в процессе полимеризации (in-situ)

Методом полимеризации в прямых эмульсиях на поверхности наночастиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  получено полимерное покрытие на основе поливинилбензилхлорида (схема 1), и сополимера поливинилбензилхлорида и полистирола (схема 2).



Микроструктура и размер нанокомпозитов охарактеризованы методом просвечивающей электронной микроскопии. Из микрофотографий установлено, что наночастицы имеют неправильную сферическую форму со средней толщиной покрытия порядка 3-5 нм. Наличие полимерного покрытия также подтверждено данными ИК-спектроскопии.

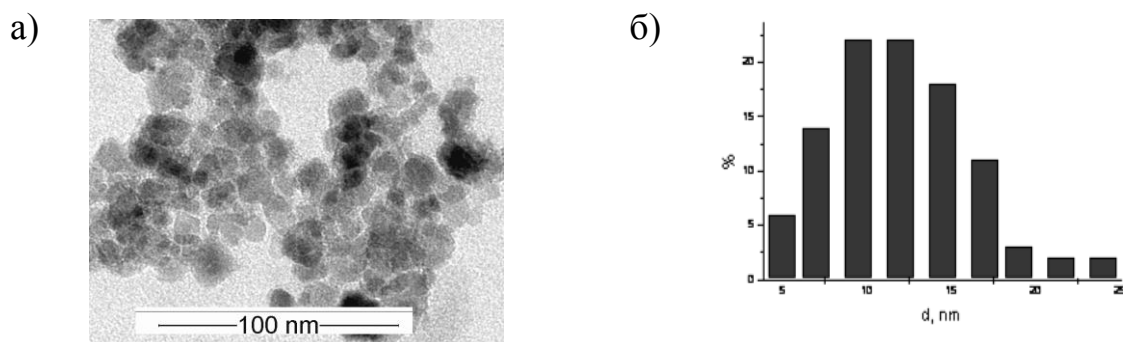


Рис. 1. а) – микрофотография, б) – распределение по размерам нанокомпозитных частиц, на основе  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  и поливинилбензилхлорида Просвечивающий электронный микроскоп JEM-1400 (Jeol, Япония)

Для создания электроактивной метки была проведена реакция кватернизации с гетероциклическими соединениями хинолином (Схемы 3, 4), хиноксалином и гетарилферроценами (Схема 5). Ранее нами получен электрохимический отклик (циклическая вольтамперограмма с ярко выраженным пиком на катодной ветви) от индивидуальных соединений солей хлорида п-бензилхинолиния и хлорида 1-(п-винилбензил)хинолиния. В качестве рабочего электрода в электрохимических исследованиях были использованы толстоплёночные графитсодержащие (ТГЭ) и углеродсодержащие (ТУЭ) электроды на жёсткой индифферентной подложке.

Схема 3

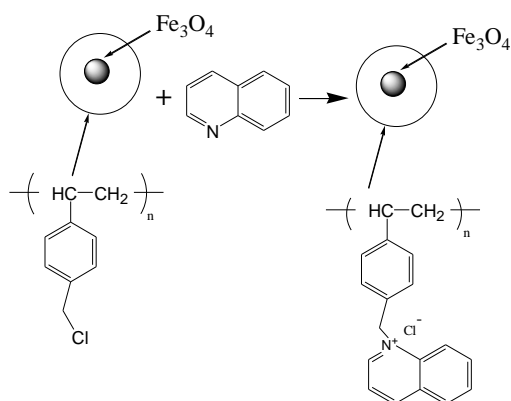


Схема 4

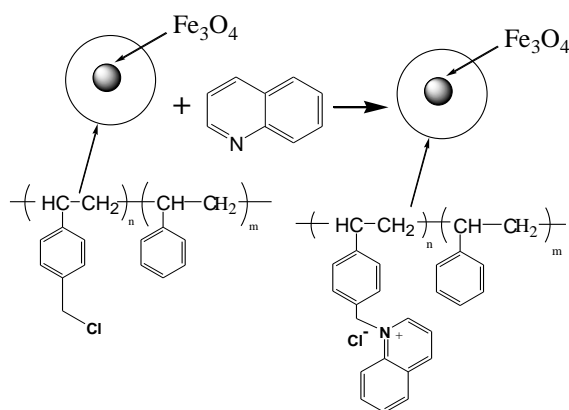
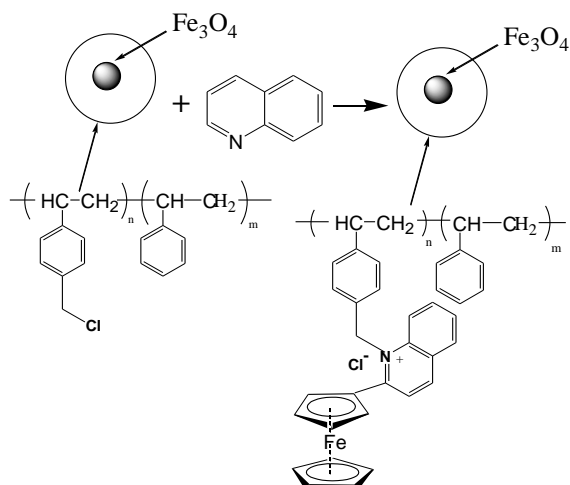


Схема 5



Для модифицированных наночастиц также был получен электрохимический отклик (рис. 2) и калибровочная зависимость величины катодного тока восстановления от содержания модифицированных нанокompозитных частиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -поливинилбензилхлорид в водной суспензии.

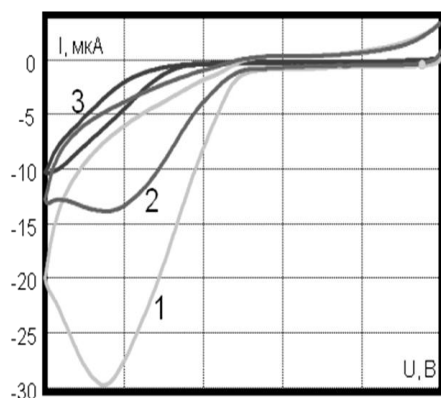
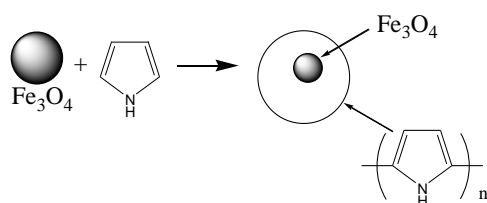


Рис. 2. Циклические вольтамперограммы, полученные на ТГЭ, с нанесенным нанокомпозитом на основе  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , покрытого поливинилбензилхлоридом, модифицированным хинолином

С использованием метода полимеризации *in-situ* были синтезированы полимерные нанокомпозиты, включающие в качестве электроактивного полимерного покрытия – полипиррол (схема 5).

Схема 5



Максимум распределения по размерам композитов, полученных таким способом, приходится на 180 нм при узком разбросе величин вокруг этого максимума (данные электронной микроскопии) (рис. 3).

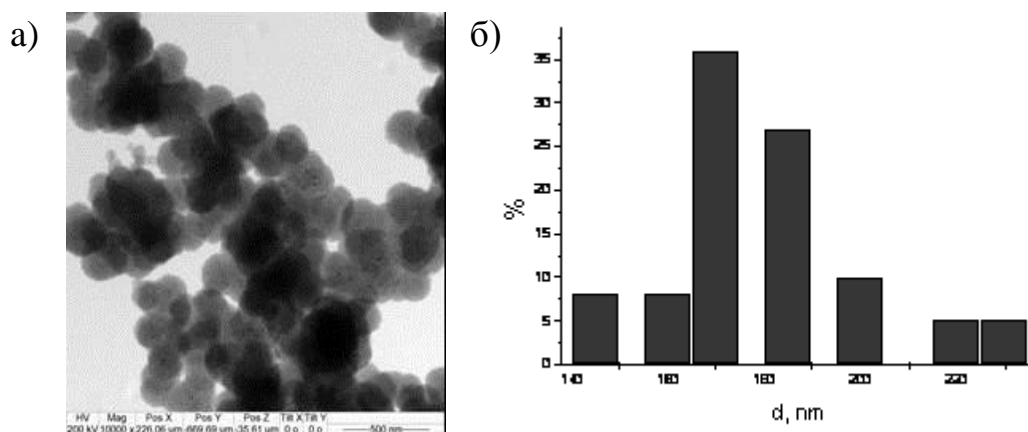


Рис. 3. а) – микрофотография, б) - распределение по размерам композитных наночастиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  – полипиррол, полученных полимеризацией методом *in-situ*

Для композитов зарегистрированы циклические вольтамперограммы с четко выраженным пиком на анодной ветви (рис. 4).

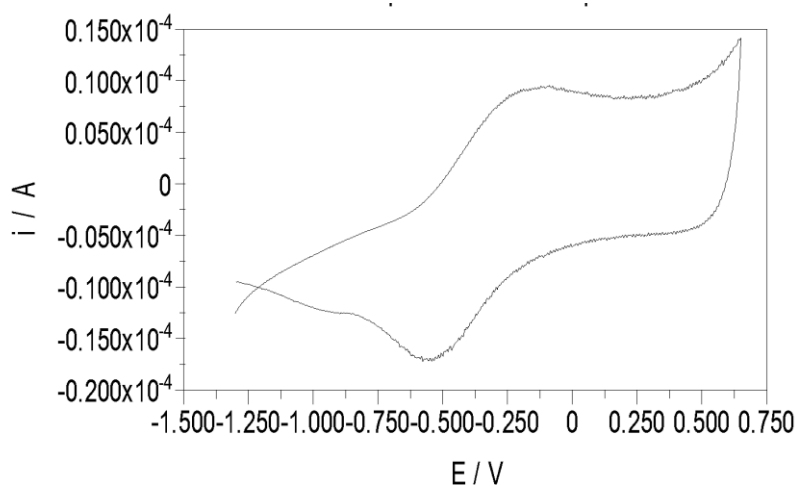


Рис. 4. Циклическая вольтамперограмма, полученная на ТУЭ, с нанесенным нанокомпозитом  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  - полипиррол

Получена линейная зависимость тока окисления от различного содержания нанокомпозитов  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  - полипиррол в исходной суспензии. Уравнение регрессии калибровочной прямой  $I = 124 \times C - 1,4$ .

Для исследования взаимодействия полученных композитных частиц с клетками суспензию полипиррольных частиц на основе магнетита (1 мг/мл) вводили в препараты *E-coli* ATCC25922 с содержанием  $6,4 \times 10^3$ ,  $6,4 \times 10^4$  и  $6,4 \times 10^5$  КОЕ/мл. После 30-мин инкубации бактерий с наночастицами регистрировали циклические вольтамперограммы.

Получен аналитический отклик (ток на анодной ветви циклической вольтамперограммы) от полипиррольных композитов на основе магнетита после взаимодействия с клетками *E-coli*.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о принципиальной возможности разработки нового класса иммуносенсоров на основе нанокомпозитов, включающих наночастицы магнетита, полимерное покрытие и сигналообразующую метку (электрохимически активные молекулы).